TestLine®

Arbeitsanleitung

EIA Toxoplasma IgG

REF TgG096

Σ 96

Kit für den professionellen Einsatz

IVD CE 2265

TestLine Clinical Diagnostics s.r.o.
Křižíkova 68, 612 00 Brno, Czech Republic
Tel.: +420 541 248 311
FAX: +420 541 243 390
E-mail: info@testlinecd.com
www.testlinecd.cz
www.testlinecd.com

INHALT

1 Dokumentenbestände 3
2 Verwendungszweck 3
3 Einleitung 3
4 Testprinzip 4
5 Bestandteile des Kits 5
6 Erforderliche, nicht im Kit enthaltene Geräte und Materialien, für die Durchführung 6
7 Lagerung und Haltbarkeit des Kits 6
8 Vorbereitung der Reagenzien 6
9 Probenverdünnung 7
10 Testdurchführung 7
11 Arbeitsschema 9
12 Testvalidität 10
13 Auswertung der Ergebnisse 10
14 Analytische Leistung 11
15 Klinische Leistung 15
16 Arbeitssicherheit 17
17 Technische Anmerkungen 18
18 Index der Avidität 19
19 Referenzen 26
20 Symbolerklärung 27

1 Dokumentenbestände

Revisionsnummer	Versionsnummer	Beschreibung der Revision
ZM01566	35	Überarbeitung des Dokuments gemäß den IVDR-Anforderungen

2 Verwendungszweck

Der immunoenzymatische Assay dient der Diagnostik und dem Screening einer Infektion mit dem Protozoon *Toxoplasma gondii* durch die Bestimmung von IgG-Antikörpern in menschlichem Serum oder Plasma bei der allgemeinen Population. Das semiquantitative und quantitative, manuelle Assay ist für die professionelle Anwendung im Labor bestimmt.

3 Einleitung

Toxoplasmose ist eine parasitäre Erkrankung, deren Erreger das Protozoon *Toxoplasma gondii* ist. Es handelt sich um einen Parasiten mit kompliziertem Entwicklungszyklus mit mehreren morphologisch unterschiedlichen Stadien. Primärwirt sind Katzen und katzenartige Raubtiere. Der Mensch und sonstige warmblütige Wirbeltiere können sich entweder primär durch infizierte Nahrung (unzureichend gegartes Fleisch) oder durch den Verzehr von Oozysten (schmutzige Finger, Gegenstände usw.) anstecken.

Die **erworbene Toxoplasmose** verläuft bei immunkompetenten Individuen gewöhnlich asymptomatisch oder nur mit leichten Anzeichen (Subfebrilie, Lymphadenopathie, Müdigkeit, Muskelschmerzen) und ohne Folgen. Die schwerwiegendsten Erscheinungen der Toxoplasmose (Enzephalitis, Hepatitis, Myokarditis, Chorioretinitis, generalisierte Form durch Erkrankung) können bei Patienten mit Immunschwäche eintreten, die darüber hinaus auch durch die Reaktivierung der latenten Infektion gefährdet sind.

Die **angeborene Toxoplasmose** wird durch die Übertragung der Infektion von der Mutter auf den Fötus verursacht. Sie ist die Folge der Erstinfektion der Mutter kurz vor oder während der Schwangerschaft. Sie kann zum Abort, zur Geburt eines toten Kindes oder eines Kindes mit unterschiedlichem Schädigungsgrad (Gehirnverkalkung, Hydrocephalus, Sehstörungen, Beeinflussung der geistigen Entwicklung) führen.

Die Diagnostik der Erkrankung basiert auf dem klinischen Bild, der epidemiologischen Anamnese und Labortests. Der direkte Nachweis des Parasiten ist in der Routinediagnostik nicht möglich. Die Serologie ist die wichtigste diagnostische Möglichkeit zum Nachweis der Toxoplasmose. Als Screening-Methode wird die Bestimmung der Gesamtantikörper mit der CFT-Methode (complement fixation test) erachtet. Die Bestimmung der spezifischen Antikörper der Klassen IgA, IgE, IgM und IgG erfolgt durch die ELISA-Methode, die ggf. durch einen Immunblot bestätigt wird.

Die Antikörper der Klassen IgA, IgE und IgM haben für die Diagnostik der akuten Toxoplasmose Bedeutung. Die Antikörper der Klasse IgM stellt einen hochsensitiven Marker einer akuten Infektion dar und können länger als ein Jahr persistieren. Antikörper der Klasse IgA können 6 bis 9 Monate nach der akuten Infektion nachgewiesen werden. Antikörper der Klasse IgE, als hochspezifischer Marker einer akuten Infektion, persistieren im Serum weniger als 6 Monate.

Antikörper der Klasse IgG erreichen den Maximalspiegel im Serum ein halbes Jahr nach dem Beginn der Erkrankung und können viele Jahre nach der Infektion nachgewiesen werden. Die Bestimmung ihrer Avidität ermöglicht den genaueren Nachweis der Erkrankungsphase.

4 Testprinzip

Das Kit ermöglicht die Bestimmung spezifischer IgG-Antikörper in der Probe mittels der Sandwich-EIA-Methode (d.h. antigenbeschichtete feste Phase – Antikörper aus der untersuchten Probe – markierter Antikörper). Der markierte Antikörper (Konjugat) ist eine tierische Immunoglobulinfraktion gegen menschliches IgG, die mit Meerrettichperoxidase konjugiert ist. Die Peroxidaseaktivität wird durch das TMB-Substrat bestimmt, das sich bei einer positiven Reaktion blau färbt. Die Enzymreaktion wird mit einer Stopplösung beendet. Die blaue Färbung schlägt in eine gelbe um. Die Intensität der Gelbfärbung wird mit dem Photometer (bei einer Wellenlänge von 450 nm) gemessen und ist proportional zur Konzentration der spezifischen IgG-Antikörper in der Probe.

Verwendetes Antigen

Aufgereinigtes und inaktiviertes Antigen von *T. gondii* (RH Stamm)

5 Bestandteile des Kits

MICROPLATE	**Beschichtete Platte** mit gebundenem Antigen, 12 x 8 Vertiefungen im Beutel mit Trocknungsmittel	1 Stck.
CONTROL - CAL1	**Negative Kontrolle (Kalibrator 1) 0,1 IU/ml** Lösung ohne spezifische menschliche Antikörper, gebrauchsfertig	1 × 2 ml
CUTOFF CAL2	**CUT-OFF (Kalibrator 2) 6 IU/ml** Lösung mit grenzwertiger Konzentration spezifischer menschlicher Antikörper, gebrauchsfertig	1 × 3 ml
CONTROL + CAL3	**Positive Kontrolle (Kalibrator 3) 60 IU/ml** Lösung mit spezifischen menschlichen Antikörpern, gebrauchsfertig	1 × 2 ml
CAL4	**Kalibrator 4 (240 IU/ml)** Lösung mit spezifischen menschlichen Antikörpern, gebrauchsfertig	1 × 2 ml
CONJUGATE	**Konjugat** Lösung mit tierischem Immunoglobulin gegen menschliches IgG, Peroxidase-Konjugiert, gebrauchsfertig	1 × 15 ml
DILUENT 5	**Verdünnungslösung für die Proben 5** Puffer mit Eiweißstabilisatoren, gebrauchsfertig	1 × 105 ml
SUBSTRATE 2	**TMB-Substrat 2** Einkomponenten-Substratlösung, TMB/H_2O_2, gebrauchsfertig	1 × 15 ml
WASH 20x	**Waschlösung** 20× konzentrierter Puffer	1 × 75 ml
STOP	**Stopplösung** Säurelösung, gebrauchsfertig	1 × 15 ml
AVIDITY 1	**Aviditätslösung 1** Stabilisierte Harnstofflösung	1 × 7 ml
	Arbeitsanweisung	1 Stck.

6 Erforderliche, nicht im Kit enthaltene Geräte und Materialien, für die Durchführung

Ein- und Mehrkanalpipetten
Einmalspitzen
Wäscher
Stoppuhr
Inkubator für 37 °C
Photometer für Mikrotiterplatten

7 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Das Kit muss bei einer Temperatur von +2 °C bis +8 °C gelagert werden. Bei Einhaltung der Lagerungsbedingungen gilt das auf der Verpackung des Kits angegebene Haltbarkeitsdatum. Der angebrochene Kit sollte innerhalb von drei Monaten verbraucht werden. Das Kit darf nicht eingefroren werden!

Proben und ihre Aufbewahrung

Zur Untersuchung können die im Bestimmungszweck angeführten Proben verwendet werden. Als Probe kann menschliches Serum und Zitratplasma verwendet werden. Bakteriell kontaminierte, hämolytische oder chylöse Proben und im Plasma enthaltene Antikoagulanzien (mit Ausnahme des Citrats) können Einfluss auf das Testergebnis haben.

Für die Entnahme des Serums wird ein Entnahme-Ragenzglas für gerinnfähiges Blut empfohlen. Für die Entnahme des Plasmas wird ein Beutel zur Entnahme des Citratplasmas empfohlen. Die Verwendung anderer Plasmatypen (EDTA, Heparin) ist möglich, jedoch nicht zu empfehlen, da die Antikoagulanzien das Testergebnis beeinflussen können.

Bei Verwendung kommerzieller oder anderer, speziell aufbereiteter Proben verfahren Sie gemäß den Hinweisen des Herstellers.

Die im Rahmen üblicher medizinischer Verfahren in standardisierte Reagenzgläser entnommenen Proben sind zur sofortigen Verwendung bereit, eine Zentrifugation und weitere Separationen sind nicht erforderlich.

Die untersuchten Proben können bei +2 °C bis +8 °C maximal 1 Woche aufbewahrt werden.

8 Vorbereitung der Reagenzien

Verdünnen Sie die Waschlösung im Verhältnis 1:20 (1 Teil Lösung und 19 Teile destilliertes Wasser). Z.B. 75 ml konzentrierte Waschlösung + 1425 ml destilliertes Wasser.

In der Flasche mit der Waschlösung können sich Salzkristalle bilden. Diese Kristalle müssen vor Gebrauch durch Erwärmung im Wasserbad aufgelöst werden. Die verdünnte Lösung ist eine Woche lang bei +2 °C bis +8 °C haltbar.

Die Kontrollen und die Kalibratoren sind gebrauchsfertig, nicht weiter verdünnen!

Das Konjugat ist gebrauchsfertig, nicht weiter verdünnen!

Das TMB-Substrat ist eine chromogene Einkomponenten-Substratlösung und gebrauchsfertig, nicht weiter verdünnen!

Austauschbarkeit der Lösungen

Die Verdünnungslösung für die Proben, TMB-Substrat und Aviditätspuffer sind in den EIA-Kits von TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. austauschbar, wenn sie die gleiche numerische Kennzeichnung aufweisen (z.B. Verdünnungslösung für die Proben 2, Verdünnungslösung für die Proben 3, usw.). Die Stopp- und Waschlösung ist in allen Kits universell.

9 Probenverdünnung

Mischen Sie die Verdünnungslösung für die Proben vor der Verwendung schonend.

Verdünnung der Serum- und Plasmaproben

Verdünnen Sie die gründlich gemischten Proben 1:101 mit der Verdünnungslösung für die Proben:

z.B: 10 µl Probe + 1 ml Verdünnungslösung für die Proben.

Gut mischen.

Verdünnen Sie fetale- und neonatale Seren 1:101 mit der Verdünnungslösung für die Proben:

např.: 10 µl Serum + 1 ml Verdünnungslösung für die Proben.

Gut mischen.

10 Testdurchführung

Es ist sehr wichtig, alle Reagenzien vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur zu bringen und gründlich zu mischen. Sofern Sie nicht die gesamte Platte verwenden, so legen Sie die nicht benötigten Strips in die Verpackung mit dem Trocknungsmittel zurück, verschließen diese luftdicht und lagern sie bei +2 °C bis +8 °C. Sorgfältig vor Feuchtigkeit schützen!

1. Pipettieren Sie die Kontrollen (Kalibratoren) sowie die verdünnten Proben gemäß dem Arbeitsschema.

Semiquantitative Auswertung im Index der Positivität (IP)

- Lassen Sie die Vertiefung A1 leer (Blank).
- Pipettieren Sie 100 µl der Negativen Kontrolle (Kalibrator 1) in 1 Vertiefung.
- Pipettieren Sie 100 µl CUT-OFF (Kalibrator 2) in 2 Vertiefungen.
- Pipettieren Sie 100 µl der Positiven Kontrolle (Kalibrator 3) in 1 Vertiefung.
- Pipettieren Sie 100 µl der verdünnten Proben (siehe Kapitol Probenverdünnung) in die restlichen Vertiefungen.

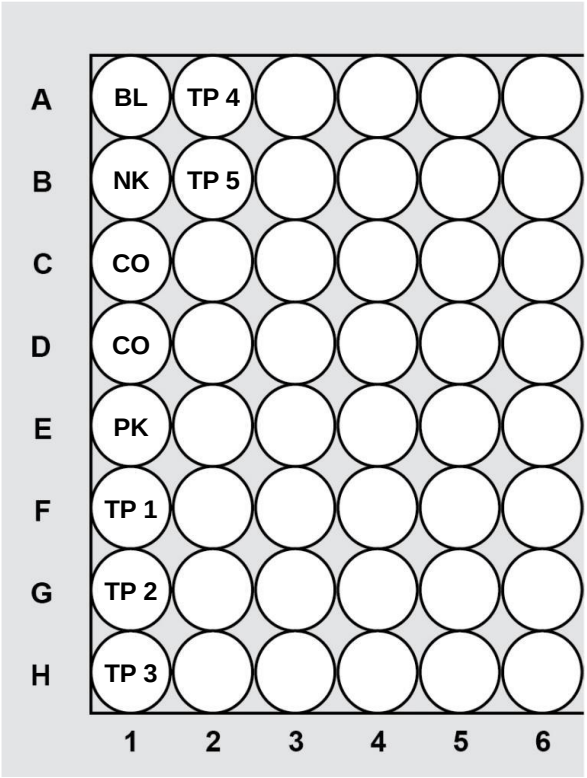
Quantitative Auswertung in Units IU/ml

- Lassen Sie die Vertiefung A1 leer (Blank).
- Pipettieren Sie 100 µl der Negativen Kontrolle (Kalibrator 1) in 1 Vertiefung.
- Pipettieren Sie 100 µl CUT-OFF (Kalibrator 2) in 2 Vertiefungen.
- Pipettieren Sie 100 µl der Positiven Kontrolle (Kalibrator 3) in 2 Vertiefungen.
- Pipettieren Sie 100 µl Kalibrator 4 in 2 Vertiefungen.
- Pipettieren Sie 100 µl der verdünnten Proben (siehe Kapitol Probenverdünnung) in die restlichen Vertiefungen.

2. Decken Sie die Platte mit dem Deckel ab und lassen Sie sie 60 Minuten bei 37 °C inkubieren.
3. Saugen Sie den Inhalt der Vertiefungen ab und waschen Sie 5× mit Arbeitswaschlösung. Füllen Sie die Vertiefungen bis zum oberen Rand. Verbleibende Flüssigkeit zum Schluss durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
4. Pipettieren Sie in alle Vertiefungen mit Ausnahme von A1 100 µl Konjugat.
5. Decken Sie die Platte mit dem Deckel ab und lassen Sie sie 60 Minuten bei 37 °C inkubieren.
6. Saugen Sie den Inhalt der Vertiefungen ab und waschen Sie 5× mit Arbeitswaschlösung. Füllen Sie die Vertiefungen bis zum oberen Rand. Verbleibende Flüssigkeit zum Schluss durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
7. Pipettieren Sie in alle Vertiefungen 100 µl TMB-Substrat. Achten Sie auf Verschmutzungen – siehe 13 Technische Anmerkungen.
8. Decken Sie die Platte mit dem Deckel ab und lassen Sie sie 20 Minuten bei 37 °C im Dunkeln inkubieren.
9. Stoppen Sie die Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und den gleichen Intervallen, wie das Substrat pipettiert wurde.
10. Messen Sie am Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm die Intensität der Verfärbung der Lösungen in den Vertiefungen im Vergleich zum Blank (Vertiefung A1), und zwar innerhalb von 30 Minuten nach dem Stoppen der Reaktion.

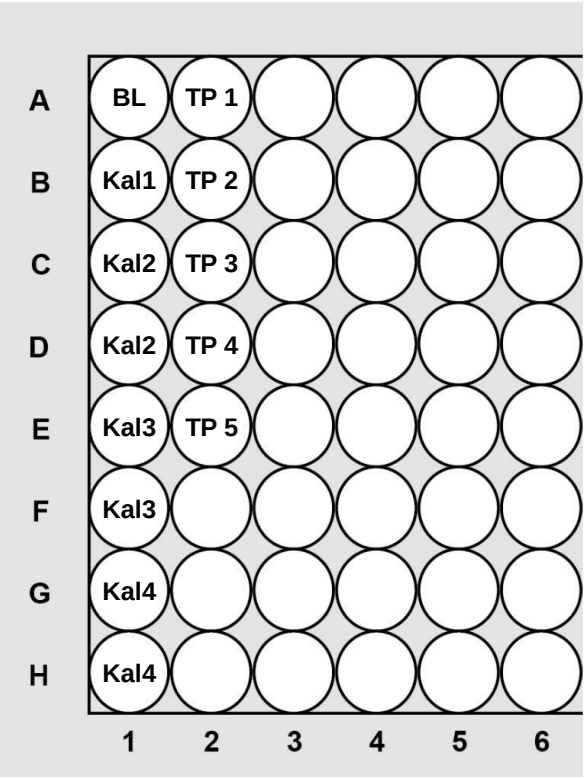
11 Arbeitsschema

Semiquantitative Auswertung
im Index der Positivität (IP)



BL	Blank (leere Vertiefung)	
NK	100 µl	CONTROL - CAL1
CO	100 µl	CUTOFF CAL2
PK	100 µl	CONTROL + CAL3
TP 1-x	100 µl	verdünnte Testprobe

Quantitative Auswertung
in Units IU/ml



BL	Blank (leere Vertiefung)	
Kal1	100 µl	CONTROL - CAL1
Kal2	100 µl	CUTOFF CAL2
Kal3	100 µl	CONTROL + CAL3
Kal4	100 µl	CAL4
TP 1-x	100 µl	verdünnte Testprobe

12 Testvalidität

Der Test ist gültig, wenn:

Die Blank-Extinktion ist kleiner als 0,150.

BLANK < 0,150

Die Extinktion der Negativen Kontrolle (Kalibrator 1) ist kleiner als die Hälfte des Durchschnitts der Extinktion von CUT–OFF (Kalibrator 2).

CONTROL	-	CAL1	< 0,5 ×	CUTOFF	CAL2

Die durchschnittliche Extinktion von CUT–OFF (Kalibrator 2) liegt im Bereich von 0,200 – 0,800.

0,200 < | CUTOFF | CAL2 | < 0,800

Die Extinktion der Positiven Kontrolle (Kalibrator 3) ist größer als das 1,5-fache der durchschnittlichen Extinktion von CUT–OFF (Kalibrator 2).

CONTROL	+	CAL3	> 1,5 ×	CUTOFF	CAL2

Die Extinktion des Kalibrators 4 ist größer als die Extinktion der Positiven Kontrolle (Kalibrator 3).

CAL4	>	CONTROL	+	CAL3

13 Auswertung der Ergebnisse

Berechnung des Positivitätsindex (IP)

Dividieren Sie die Extinktion der getesteten Probe durch die durchschnittliche in der gleichen Serie der Untersuchung gemessene Extinktion von CUT-OFF:

$$\mathbf{IP} = \frac{\textbf{Extinktion der Probe}}{\textbf{Durchschnittliche Extinktion CUT-OFF}}$$

Die Interpretation der Untersuchungsergebnisse siehe Tabelle (Tabelle 1).

Tabelle 1 Interpretation der Untersuchungsergebnisse

Positivitätsindex (IP)	Auswertung
kleiner als 0,9	negativ
0,9 bis 1,1	grenzwertig
höher als 1,1	positiv

Die Untersuchung grenzwertiger Proben, d. h. Proben mit einem Positivitätsindex von 0,9 bis 1,1, muss nach 2 bis 6 Wochen unter Berücksichtigung der jeweiligen spezifischen Erkrankung nach erneuter Entnahme wiederholt werden.

Quantitative Auswertung in internationalen Einheiten (IU/ml)

Erstellen Sie eine Kalibrierungskurve, indem Sie die Konzentration der Kalibratoren in IU/ml (X-Achse) gegen die entsprechenden Extinktionen (Y-Achse) auftragen. Durch Verbindung der einzelnen Punkte erstellen Sie die Kalibrierungskurve. Bestimmen Sie den Antikörperspiegel in den Proben (IU/ml) durch Ablesen dieser Werte von der Kalibrierungskurve.

Sofern der Antikörperspiegel in der Probe größer als 240 IU/ml ist, verdünnen Sie die Probe in zwei Schritten und wiederholen Sie den Test (Endverdünnung 1:1010).

Schritt 1. Verdünnen Sie die Probe 1:101 mit der Verdünnungslösung für die Proben: 10 µl Probe + 1 ml Verdünnungslösung für die Proben.

Schritt 2. 100 µl der im Schritt 1 verdünnten Probe verdünnen Sie mit 900 µl Verdünnungslösung für die Proben.

Die von der Kalibrierungskurve abgelesenen Konzentration der Antikörper sind dann mit 10 zu multiplizieren (x 10).

Die Interpretationen der Ergebnisse der quantitativen Auswertung des Tests siehe Tabelle (Tabelle 2).

Tabelle 2 Quantitative Auswertung in internationalen Einheiten (IU/ml)

Antikörperspiegel (IU/ml)	Auswertung
kleiner als 5,4	negativ
5,4 bis 6,6	grenzwertig
höher als 6,6	positiv

Die Untersuchung grenzwertiger Proben muss nach 2 bis 6 Wochen unter Berücksichtigung der jeweiligen spezifischen Erkrankung nach erneuter Blutentnahme wiederholt werden.

Der serologische Befund kann nur im Kontext mit den Ergebnissen anderer Labortests und mit dem klinischen Bild des Patienten interpretiert werden.

14 Analytische Leistung

14.1 Spezifität und Sensitivität

Die Spezifität wurde auf der Platte negativer Proben ermittelt. Die Sensitivität wurde auf der Platte positiver Proben ermittelt. Die Anzahl der getesteten Proben und die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 3) beschrieben.

14.2 Wahrheitswert (Bias)

Der Wahrheitswert ist der Grad der Übereinstimmung zwischen dem anhand einer großen Anzahl von Messergebnissen ermittelten, durchschnittlichen Wert und dem Referenzwert. Sein Maß ist die Abweichung (Bias). Die Korrektheit der Methode ist durch die klinischen Parameter, wie u.a. durch die Empfindlichkeit und Spezifität, den Vergleich mit der Referenzmethode, und durch die Kontinuität der Chargen gewährleistet. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 3) beschrieben.

14.3 Präzision: Wiederholbarkeit – Intra-assay (within-run)

Die Präzision unter den Bedingungen der Wiederholbarkeit ist als Grad der Übereinstimmung zwischen den durch wiederholte Messung der Proben am gleichen Objekt und zu gleichen Bedingungen in einer Untersuchungsserie gewonnenen Messwerten definiert. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 3) beschrieben.

14.4 Präzision: Reproduzierbarkeit – Inter-assay (between-run)

Die Präzision unter den Bedingungen der Reproduzierbarkeit drückt die Stufe der Übereinstimmung zwischen den Replikationen der Proben in mehreren Untersuchungsserien der gleichen Charge aus. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 3) beschrieben.

14.5 Genauigkeit

Die Genauigkeit ist als Grad der Übereinstimmung zwischen dem Messwert und dem Referenzwert definiert. Sie wird durch das erreichbare Maß der kombinierten Unsicherheit ausgedrückt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 3) beschrieben.

14.6 Analytische Sensitivität – Schwellenwert der Sensitivität

Es handelt sich um die Verdünnung einer grenzwertigen oder schwach positiven Probe, ggf. laut international anerkannten Standards, bei welcher sich die Absorbanz (Extinktion) noch ändert. Sie wird in einem Positivitätsindex und/oder in Einheiten ausgedrückt. Dieser Wert ist eine minimale Nachweis- und Quantifizierungsgrenze. Die erlangten Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 3) beschrieben.

14.7 Messbereich des Kits

Der Messbereich des Kits liegt zwischen jenen Werten, bei welchen der untere Grenzwert durch den Wert der analytischen Empfindlichkeit bestimmt und der obere Grenzwert von der Messfähigkeit des verwendeten Gerätes abhängig ist.

14.8 Linearität

Die Linearität ist die Fähigkeit der Methode, zur Konzentration des Analyten in der Probe proportionale Ergebniswerte zu erlangen. Ausgedrückt wird sie als Umfang jenes Intervalls, in welchem die Methode lineare Ergebnisse bietet. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 3) beschrieben.

14.9 Hook-Effekt

Der Hook-Effekt ist eine immunologische Erscheinung, die falsch niedrige Ergebnisse bei Anwesenheit einer übermäßigen Menge des Analyten bewirkt. Sein Vorhandensein wird durch serielle Verdünnung einer stark positiven Probe nachgewiesen (Tabelle 3).

14.10 Vergleich mit der Referenzmethode

Es erfolgte der Vergleich mit der Referenzmethode. Die Ergebnisse beider Methoden sind unter Berücksichtigung ihrer Unterschiedlichkeiten vergleichbar und entsprechen gänzlich den Anforderungen, wenn die Übereinstimmung bei der Klassifizierung der Proben mindestens 90 % beträgt (Tabelle 3).

Tabelle 3 Analytische Leistung

Parameter	Wert
Sensitivität (n 89)	98,88 %
Spezifität (n 50)	99,99 %
Wahrheitswert (Bias)	-18,71 %
Präzision: Wiederholbarkeit	5,63 %
Präzision: Reproduzierbarkeit	7,30 %
Genauigkeit	9,79 %
Analytische Sensitivität	IP 0,01
	0,17 IU/ml
Linearitätsintervall	IP 0,22–3,51
	1,22–166,18 IU/ml
Hook-Effekt	Nicht festgestellt
Vergleich mit der Referenzmethode	Mindestens 90 %

N/A – nicht anwendbar

14.11 Interferenz

Zwei Proben (ein Mix negativer Plasmen und ein Mix positiver Plasmen) wurden mit potenziell interferierenden Stoffen angereichert. Die Ergebnisse der Interferenz zeigt die Tabelle (Tabelle 4).

Tabelle 4 Ergebnisse der Interferenz

Interferierender Stoff	Ergebnis unbeeinflusst bis zur Konzentration:
Bilirubin	0,4 mg/ml
Triacylglycerole	20 mg/ml
Hämoglobin	2,5 mg/ml
Biotin	3500 ng/ml

14.12 Kreuzreaktivität

Mittels des Kits wurden positive Proben für ausgewählte potenziell kreuzreagierende Pathogene oder Faktoren untersucht. Die Ergebnisse des Tests umfassten die Tabelle (Tabelle 5).

Tabelle 5 Ergebnisse der kreuzreagierenden Pathogener oder Faktoren

Kategorien	(n)	Positives Ergebnis
Parvovirus B19	8	0
VZV	2	0
HSV	4	0
CMV	4	0
Rubella virus	3	0
RF	5	0
EBV	7	0
ANA	23	0
Treponema pallidum	6	0
Total	**62**	**0**

15 Klinische Leistung

15.1 Diagnostische Spezifität und diagnostische Sensitivität

Die diagnostische Spezifität wurde anhand des Panels negativer Proben ermittelt. Die diagnostische Sensitivität (Empfindlichkeit) wurde anhand des Panels positiver Proben ermittelt. Die Anzahl der getesteten Proben und der gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 6) beschrieben.

15.2 Positiver und negativer, prädiktiver Wert

Der positive, prädiktive Wert ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person tatsächlich von der Infektion befallen ist, sofern das Ergebnis positiv war. Der negative, prädiktive Wert ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person tatsächlich gesund ist, sofern das Ergebnis negativ war. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 6) beschrieben.

15.3 Glaubwürdigkeitverhältnis (Likelihood Ratio) des Kits

Glaubwürdigkeitsverhältnis (Likelihood Ratio) des Kits für den Positivtest ist der Anteil der Wahrscheinlichkeit, dass eine Einzelperson aus der befallenen Population als positiv diagnostiziert wird, und der Wahrscheinlichkeit, dass eine gesunde Einzelperson durch den Test fehlerhaft als positiv diagnostiziert wird.

Glaubwürdigkeitsverhältnis (Likelihood Ratio) des Kits für den Negativtest ist der Anteil der Wahrscheinlichkeit, dass eine Einzelperson aus der befallenen Population durch den Test fehlerhaft als negativ diagnostiziert wird, und der Wahrscheinlichkeit, dass eine gesunde Einzelperson als negativ diagnostiziert wird. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 6) beschrieben.

15.4 Erwartete Werte in der Population

Die erwarteten Werte in der Population bezüglich der Anwesenheit spezifischer Antikörper sind auf der Grundlage der Ergebnisse der Werte bei einer Gruppe von als negativ deklarierten Proben und bei einer Gruppe von als positiv deklarierten Proben festgelegt. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle (Tabelle 6) beschrieben.

Tabelle 6 Klinische Leistung

Parameter	Wert	95 % Zuverlässigkeitsintervall (CI)
Diagnostische Empfindlichkeit (n 89)	98,88 %	93,90–99,97 %
Diagnostische Spezifität (n 50)	99,99 %	92,89–100,00 %
Positiver, prädiktiver Wert (n 89)	99,99 %	95,89–100,00 %
Negativer, prädiktiver Wert (n 50)	98,04 %	89,55–99,95 %
Glaubwürdigkeitsverhältnis (Likelihood Ratio) des Kits für den Positivtest	>100	-
Glaubwürdigkeitsverhältnis (Likelihood Ratio) des Kits für den Negativtest	0,011	-
Erwartete Werte in der gesunden Population	IP 0,15	IP 0,13–0,17
Erwartete Werte in der befallenen Population	IP 3,79	IP 3,67–3,91

16 Arbeitssicherheit

Der Test ist nur für Diagnosezwecke in vitro vorgesehen.

Die bei der Fertigung der Kontrollen verwendeten Seren wurden mit negativem Ergebnis auf HIV 1 und HIV 2, HBsAg, HCV, TPHA untersucht. Dennoch ist es erforderlich, mit den Seren so umzugehen, als seien sie potentielles Infektionsmaterial.

Einige Reagenzien enthalten den toxischen Bestandteil Natriumazid oder Gentamicin, allerdings in sehr geringen Konzentrationen. Vermeiden Sie Hautkontakt.

Die Stopplösung enthält eine verdünnte Säurelösung.

Schützen Sie bei der Arbeit mit dieser Lösung Ihre Augen und Ihre Haut!

Es ist notwendig, die örtlichen Arbeitssicherheitsbestimmungen einzuhalten.

Erste-Hilfe-Maßnahmen

Spülen Sie bei Augenkontakt Ihre Augen gründlich mit lauwarmem Wasser und suchen Sie einen Arzt auf. Entledigen Sie sich bei Kleidung – und Hautkontakt sämtlicher kontaminierter Kleidung. Spülen Sie die Haut gründlich mit Wasser und Seife ab. Desinfizieren Sie die Haut, sofern Spritzer einer Lösung, die Plasma oder eine klinische Probe enthält, auf diese gelangen. Spülen Sie bei zufälligem Verzehr Ihren Mund mit Trinkwasser aus und nehmen Sie ärztliche Hilfe in Anspruch.

Resteentsorgung nach den durchgeführten Tests

Sämtliche zur Testdurchführung verwendeten Hilfsmittel sind hinsichtlich des Kontakts mit biologischem Material als potentiell infektiös zu betrachten. Deshalb sind sie als biologischer Abfall zu entsorgen.

Entsorgung des Kits nach Ablauf der Haltbarkeitsdauer

Zerlegen Sie das Kit in seine einzelnen Komponenten und entsorgen Sie diese als biologisches Material. Entsorgen Sie die Verpackungen und Verpackungsreste gemäß den örtlichen Vorschriften als sortierten Abfall.

17 Technische Anmerkungen

Um zuverlässige Ergebnisse zu erzielen, ist die **genaue Einhaltung der Anleitung** notwendig. Verwenden Sie bei der Arbeit stets Hilfsmittel höchsten Sauberkeitsgrades. Bevorzugen Sie Hilfsmittel für den einmaligen Gebrauch.

Mikrotiterplatte – Bringen Sie vor dem Öffnen den Beutel mit der Mikrotiterplatte auf Labortemperatur, damit auf der Plattenoberfläche kein Wasserdampf kondensiert.

Waschlösung – verwenden Sie zur Vorbereitung der Waschlösungs-Arbeitsverdünnung hochwertiges destilliertes Wasser.

Waschen – halten Sie die vorgeschriebene Anzahl der Waschzyklen ein und füllen Sie die Vertiefungen bis zum oberen Rand. Die Zeitdauer, während der die Vertiefungen zwischen den Waschzyklen mit der Waschlösung gefüllt verbleiben (soak time), sollte etwa 30–60 Sekunden betragen.

TMB-Substrat – verwenden Sie die Pipettierwanne für TMB-Substrat für keine anderen Lösungen. Füllen Sie den Lösungsrest aus der Pipettierwanne nicht in die Flasche zurück.

Nicht nachvollziehbaren Ergebnissen können methodische Fehler zugrunde liegen, insbesondere:

- unzureichendes Mischen der Lösungen und der Proben vor der Verwendung
- Vertauschen der Flaschenverschlüsse
- Verwendung der gleichen Spitze zum Pipettieren verschiedener Lösungen
- die Reagenzien wurden zu hohen Temperaturen, bakterieller oder chemischer Kontamination ausgesetzt
- unzureichendes Auswaschen der Vertiefungen, die Vertiefungen wurden nicht bis zum Rand gefüllt, schlechtes Absaugen der Lösungsreste
- Verschmutzung der Vertiefungsränder mit Konjugat oder mit Proben
- Vertauschen der Reagenzien aus verschiedenen Kit-Chargen
- Kontakt der Reagenzien mit Oxidationsmitteln, Schwermetallen und deren Salzen

Technische Limitierung der Proben

Bei der Herstellung und Entwicklung des Kits wurden Materialien menschlichen Ursprungs von der im Bestimmungszweck angeführten Spenderpopulation verwendet. Sofern nicht anders angeführt, sind die Kits zur Verwendung in der allgemeinen Population bestimmt.

Bei Verwendung von Proben aus anderen spezifischen Populationen (komorbide, immunkompromittierte Population, Schwangere, Kinder) ist im Kontext der fachlichen Kenntnisse und des aktuellen, wissenschaftlichen Kenntnisstandes das Risiko der spezifischen Beeinflussung des Ergebnisses des angewandten Tests u.a. durch Interferenz oder Kreuzreaktivität in Betracht zu ziehen.

Weitere Anmerkungen

Das Kit kann in mehrere Tests aufgeteilt werden. Entnehmen Sie zur Vorbereitung der Arbeitslösungen nur so große Mengen Reagenzien, wie für die Analyse notwendig sind.

Der Test kann auf allen Typen automatischer ELISA-Analysatoren durchgeführt werden. Bei Bedarf bietet TestLine Clinical Diagnostics s.r.o. eine zertifizierte Modifizierung der Arbeitsanweisung für den jeweiligen Automatentyp an.

Bei Nichteinhaltung des Arbeitsverfahrens haftet der Hersteller nicht für die korrekte Funktion des Tests.

18 Index der Avidität

18.1 Einleitung

Die Avidität der Antikörper bringt die Festigkeit der Bindung zwischen dem Antigen und den Antikörpern zum Ausdruck. Bei der Primärinfektion werden zunächst Antikörper mit geringer Avidität gebildet. Im Verlaufe der Infektion reift die Immunreaktion des Organismus aus und die Avidität der Antikörper nimmt zu. In der latenten Phase der Erkrankung sind die Antikörper hochavid und bei einer Sekundärinfektion oder einer Reaktivierung produzieren die Gedächtnis-B-Zellen sofort IgG-Antikörper mit hoher Avidität. Die Feststellung der Avidität der IgG-Antikörper ermöglicht die genauere Bestimmung der Ansteckungsphase und ist eine sinnvolle Ergänzung zur serologischen Diagnostik.

18.2 Testprinzip

Die Bestimmung der Avidität der Antikörper basiert auf dem Prinzip der Beeinträchtigung der Bindung zwischen dem Antigen und den Antikörpern durch eine Aviditäslösung (Harnstofflösung). Antikörper mit geringer Avidität werden durch das Wirken der Aviditätslösung aus der Bindung an das Antigen freigesetzt und ausgeschwemmt. Im Gegensatz hierzu bleiben die hochaviden Antikörper auch nach dem Wirken der Aviditätslösung zum Großteil an das Antigen gebunden. Die Festigkeit der Bindung wird durch den Index der Avidität (IAv) ausgedrückt, der festlegt, welcher Anteil der Antikörper (in %) nach der Inkubation mit der Aviditätslösung an das Antigen gebunden blieb. Die praktische Bestimmung besteht in der Durchführung des modifizierten ELISA-Verfahrens unter Verwendung der Aviditätslösung, im Vergleich zum normalen Verfahren ELISA. Die Bestimmung der IgG-Avidität erfolgt nur bei IgG-positiven Proben.

Bei mehr als 90 % der untersuchten Seren wird die Interpretation des Ergebnisses nicht durch unterschiedliche Probenverdünnungen beeinflusst, z.B. ob die Probe 1:101 oder stärker verdünnt wurde. Bei weniger als 10 % der Seren kann der Aviditätsindex einer 1:101 verdünnten Probe ein hochaffines Ergebnis ergeben, während dieselbe Probe bei höherer Verdünnung zu einem niederaffinen Ergebnis führt. Optimale Ergebnisse wurden mit einer Antikörperkonzentration von ca. 60 IU/ml erzielt. Der Test kann daher als Einpunkt- oder Dreipunkttest durchgeführt werden.

Einpunkt-Bestimmung

In der Serumprobe wird die Antikörperkonzentration quantitativ (in IU/ml) in der üblichen Weise bestimmt (siehe Kapitol Testdurchführung). Außerdem wird die Probe mittels der Verdünnungslösung auf 60 IU/ml verdünnt und der Ides der Avidität anschließenden mit dem ELISA-Test bestimmt.

Dreipunkt-Bestimmung

In der Serumprobe erfolgt ohne vorheriges Testen die Bestimmung des Aviditätsindex. Das Serum wird für diese Bestimmung in drei Konzentrationen untersucht: In der Ausgangsverdünnung des Tests (1:101), außerdem fünffach verdünnt und fünfundzwanzigfach verdünnt. Diese Titrationsanalyse ist insbesondere für eilige Bestimmungen geeignet (STAT-Bestimmungen).

18.3 Vorbereitung der Reagenzien

Bringen Sie alle Reagenzien, einschließlich der Aviditätslösung, auf Labortemperatur und mischen sie gründlich. Im Fläschchen mit der Aviditätslösung können sich Kristalle bilden. Diese Kristalle sind vor Gebrauch durch kurzes Erwärmen aufzulösen. Die Funktionsfähigkeit der Aviditätslösung wird durch gelbe Färbung angezeigt. Die Lösung ist temperaturempfindlich. Ein Farbumschlag von gelb auf rot bedeutet eine Verschlechterung, rotgefärbte Aviditätslösung kann nicht mehr verwendet werden!

18.4 Einpunkt-Bestimmung

18.4.1 Probenverdünnung

Bestimmung des Antikörpergehalts in IU/ml

Führen Sie die Bestimmung des Antikörpergehalts in IU/ml mithilfe des Toxoplasma IgG ELISA-Tests durch (siehe Kapitol Testdurchführung).

Vorverdünnung auf 60 IU/ml

1. Falls der Antikörpergehalt in der Probe weniger als 60 IU/ml beträgt, wird nicht vorverdünnt.
2. Falls der Antikörpergehalt in der Probe 60–240 IU/ml beträgt, ist die Probe mit der Verdünnungslösung für Proben auf 60 IU/ml zu verdünnen (z. B. bei einem Gehalt von 180 IU/ml wird dreifach verdünnt = 1+2).
3. Falls der Antikörpergehalt in der Probe mehr als 240 IU/ml beträgt, ist die Bestimmung des quantitativen Antikörpergehalts mit einer 1:1010 verdünnten Probe vorzunehmen und das Ergebnis mit 10 zu multiplizieren. Verdünnen Sie die Probe anschließend mit der Proben-Verdünnungslösung entsprechend dem Antikörpergehalt auf 60 IU/ml.

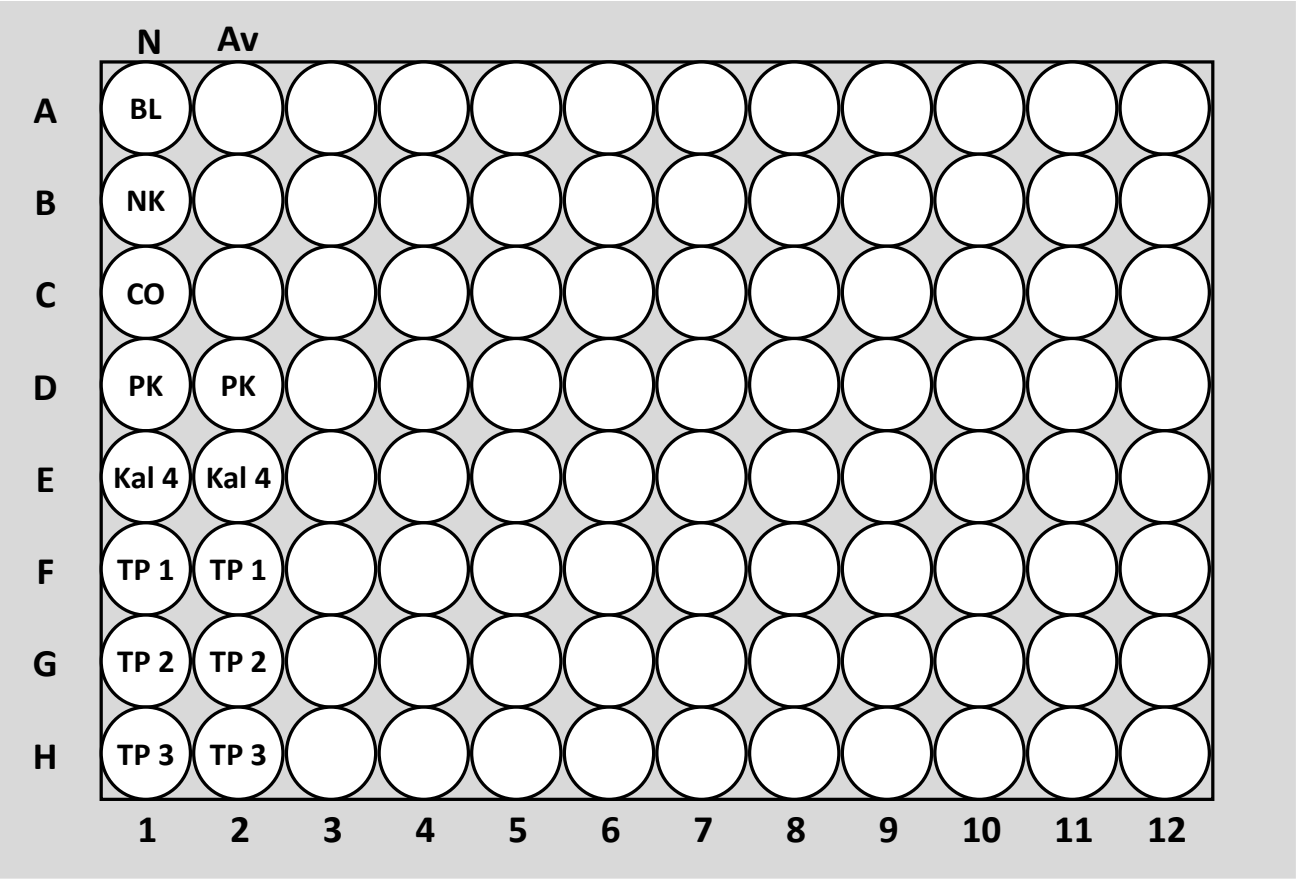
Verdünnung der Probe für die Bestimmung des Aviditätsindex

Verdünnen Sie das vorverdünnte Serum (60 IU/ml) mit der Proben-Verdünnungslösung 1:101 (10 µl Serum + 1 ml Proben-Verdünnungslösung). Gründlich mischen.

18.4.2 Testdurchführung

1. Pipettieren Sie die Kontrollen sowie die verdünnten Proben gemäß dem Arbeitsschema.
   - Lassen Sie die Vertiefung A1 leer (Blank).
   - Pipettieren Sie 100 µl der Negativen Kontrolle (Kalibrator 1) 0,1 IU/ml in 1 Vertiefung des Strips N.
   - Pipettieren Sie 100 µl CUT-OFF (Kalibrator 2) 6 IU/ml in 1 Vertiefung des Strips N.
   - Pipettieren Sie 100 µl der Positiven Kontrolle (Kalibrator 3) 60 IU/ml in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.
   - Pipettieren Sie 100 µl von Kalibrator 4 (240 IU/ml) in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.
   - Pipettieren Sie 100 µl der verdünnten Proben in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.

Schema für die Einpunkt-Bestimmung



N	Strip für den Normaltest (ohne Aviditätslösung)	
Av	Strip für den Aviditätstest (Inkubation mit Aviditätslösung)	
BL	Blank (leere Vertiefung)	
NK	100 µl	CONTROL - CAL1
CO	100 µl	CUTOFF CAL2
PK	100 µl	CONTROL + CAL3
Kal 4	100 µl	CAL4
TP 1-x	100 µl	getestet Probe

18.5 Dreipunkt-Bestimmung

18.5.1 Probenverdünnung

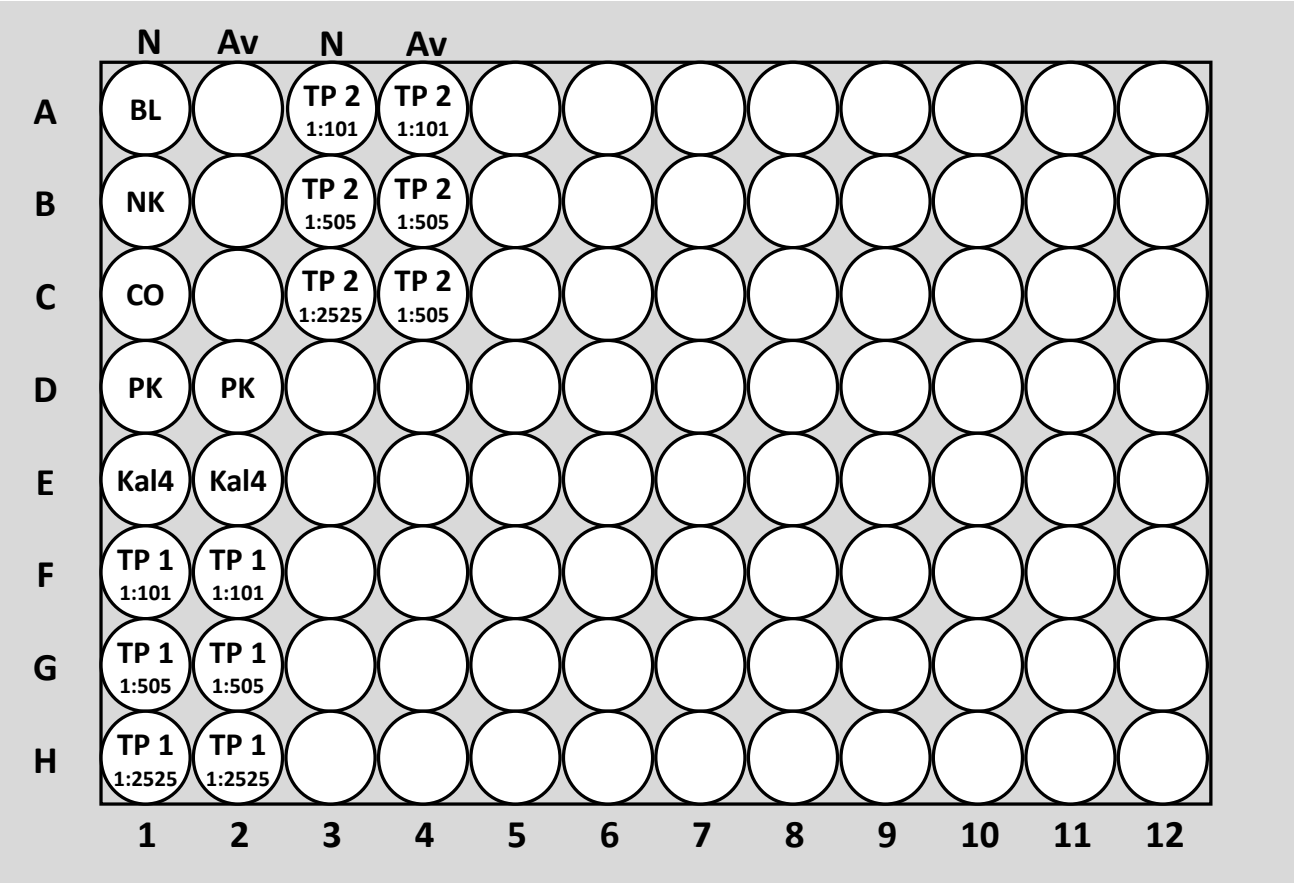
Führen Sie die Probenverdünnung in drei Schritten durch und bestimmen Sie von jedem Schritt den Aviditätsindex.

1. Schritt – verdünnen Sie die Serumprobe 1:101 mit der Verdünnungslösung für die Proben:
   10 µl + 1 ml (Gesamtverdünnung 1:101)
2. Schritt – verdünnen Sie das verdünnte Serum aus Schritt 1 weiter im Verhältnis 1:5:
   100 µl + 400 µl (Gesamtverdünnung 1:505)
3. Schritt – verdünnen Sie das verdünnte Serum aus Schritt 2 weiter im Verhältnis 1:5:
   100 µl + 400 µl (Gesamtverdünnung 1:2525)

18.5.2 Testdurchführung

1. Pipettieren Sie die Kontrollen sowie die verdünnten Proben gemäß dem Arbeitsschema.
   - Lassen Sie die Vertiefung A1 leer (Blank).
   - Pipettieren Sie 100 µl der Negativen Kontrolle (Kalibrator 1) 0,1 IU/ml in 1 Vertiefung des Strips N.
   - Pipettieren Sie 100 µl CUT-OFF (Kalibrator 2) 6 IU/ml in 1 Vertiefung des Strips N.
   - Pipettieren Sie 100 µl der Positiven Kontrolle (Kalibrator 3) 60 IU/ml in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.
   - Pipettieren Sie 100 µl von Kalibrator 4 (240 IU/ml) in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.
   - Pipettieren Sie 100 µl der 1:101 verdünnten Proben aus Schritt 1 in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.
   - Pipettieren Sie 100 µl der 1:505 verdünnten Proben aus Schritt 2 in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.
   - Pipettieren Sie 100 µl der 1:2525 verdünnten Proben aus Schritt 3 in zwei benachbarte Vertiefungen des Strips N und Av.

Schema für die Dreipunkt-Bestimmung



N	Strip für den Normaltest (ohne Aviditätslösung)	
Av	Strip für den Aviditätstest (Inkubation mit Aviditätslösung)	
BL	Blank (leere Vertiefung)	
NK	100 µl	CONTROL - CAL1
CO	100 µl	CUTOFF CAL2
PK	100 µl	CONTROL + CAL3
Kal4	100 µl	CAL4
TP 1-x	100 µl	getestet Probe

Die weitere Arbeitsschritte sind für die Einpunkt- und die Dreipunktbestimmung identisch

2. Bedecken Sie die Platte mit den Proben und Kontrollproben mit einem Deckel und lassen Sie sie 60 Minuten bei 37 °C inkubieren.
3. Saugen Sie den Inhalt der Vertiefungen ab und waschen Sie 5x mit Arbeitswaschlösung. Füllen Sie die Vertiefungen bis zum oberen Rand. Verbleibende Flüssigkeit zum Schluss durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
4. Pipettieren Sie in alle Vertiefungen der Strips Av 100 µl Aviditätslösung.
5. Pipettieren Sie in alle Vertiefungen der Strips N 100 µl der Arbeitswaschlösung.
6. Decken Sie die Platte mit dem Deckel ab und lassen Sie sie 10 Minuten bei 37 °C inkubieren.
7. Saugen Sie den Inhalt der Vertiefungen ab und waschen Sie 5× mit Arbeitswaschlösung. Füllen Sie die Vertiefungen bis zum oberen Rand. Verbleibende Flüssigkeit zum Schluss durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
8. Pipettieren Sie in alle Vertiefungen mit Ausnahme von Blank (A1–Blank) 100 µl Konjugat.
9. Decken Sie die Platte mit dem Deckel ab und lassen Sie sie 60 Minuten bei 37 °C inkubieren.
10. Saugen Sie den Inhalt der Vertiefungen ab und waschen Sie 5× mit Arbeitswaschlösung. Füllen Sie die Vertiefungen bis zum oberen Rand. Verbleibende Flüssigkeit zum Schluss durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
11. Pipettieren Sie in alle Vertiefungen 100 µl TMB-Substrat.
12. Decken Sie die Platte mit dem Deckel ab und lassen Sie sie 20 Minuten bei 37 °C im Dunkeln inkubieren.
13. Stoppen Sie die Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und den gleichen Intervallen, wie das Substrat pipettiert wurde.
14. Messen Sie am Photometer bei einer Wellenlänge von 450 nm die Intensität der Verfärbung der Lösungen in den Vertiefungen im Vergleich zum Blank (Vertiefung A1), und zwar innerhalb von 30 Minuten nach dem Stoppen der Reaktion.

18.6 Testvalidität

Die Auswertung der Validität des Tests erfolgt anhand der N-Strips (siehe Kapitol Testvalidität)

Der Test ist gültig, wenn:
Der Index der Avidität der Positiven Kontrolle (Kal3) ist kleiner als 30 %.

IAv	CONTROL	+	CAL3	< 30 %

Der Index der Avidität des Kalibrators 4 ist größer als 60 %.

IAv	CAL4	> 60 %

18.7 Auswertung der Ergebnisse

Berechnung des Aviditätsindex (IAv)

Dividieren Sie die Extinktion der getesteten Probe auf dem Streifen Av durch die in der gleichen Serie der Untersuchung gemessene Extinktion der auf dem Streifen N getesteten Probe:

$$\text{IAv} = \frac{\text{Extinktion der Probe auf dem Strip Av}}{\text{Extinktion der Probe auf dem Strip N}} \times 100\ [\%]$$

Die Interpretation der Untersuchungsergebnisse siehe Tabelle (Tabelle 7).

Bei der Dreipunkt-Analyse wird der Aviditätsindex IAv für die 1:101, 1:505 und 1:2525 Probenverdünnung berechnet. Bestimmen Sie die Probenverdünnung bei der der Antikörperspiegel am nächsten bei 60 U/ml liegt. Der IAv dieser Probenverdünnung ist der relevante Avititätsindex.

Tabelle 7 Interpretation der Untersuchungsergebnisse

Aviditätsindex (IAv) in %	Auswertung der Avidität	Interpretation der Ergebnisse
< 30	niedrig	akute Toxoplasmose < 4 Monate nach Infektion
30–35	grenzwertig	Untersuchung nach 3–4 Wochen wiederholen
35–100	hoch	> 4 Monate nach Infektion

Hinweise zur Interpretation:

- Bei weniger als 5 % der Patienten, die eine Toxoplasmose durchmachten, erhöht sich auch nach 4 Monaten ab der Infektion die Avidität nicht und der Aviditätsindex bleibt kleiner oder gleich 30, obwohl es sich nicht um eine akute Toxoplasmose handelt. Dies ist insbesondere für Seren mit einem geringen Gehalt an Anti-Toxoplasma-IgG charakteristisch. Proben mit einer spezifischen IgG-Konzentration von weniger als 25IU/ml, insbesondere bei verdünnten Proben (Dreipunkt-Analyse) können zu geringe Aviditätswerte aufweisen.
- Die Dreipunkt-Aanalyse kann nicht ausgewertet werden, wenn der IgG-Gehalt in einer Probe > 5000 IU/ml ist.
- Ergebnisse mit einem grenzwertiger Aviditätsindex sollten nach 3–4 Wochen mit einer neuen Probe wiederholt werden.
- Manche Patienten mit hohem IAv können persistierende, niedrige als auch hohe Spiegel von spezifischen IgM- und IgA-Antikörpern haben.
- Die Ergebnisse der IgG-Aviditätsbestimmung sollten im Kontext der Ergebnisse anderer Untersuchungen, insbesondere CFT, NIFR-Titer und IgG-, IgM- und IgA-Spiegen interpretiert werden.

19 Referenzen

1. Henriquez SA, Brett R, Alexander J, Pratt J, Roberts CW. Neuropsychiatric Disease and Toxoplasma gondii Infection. *Neuroimmunomodulation.* 2009. 16 (2):122–133.
2. Hill D, Dubey JP. Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2002. 8 (10): 634–640.
3. Howe DK, Sibley LD. Toxoplasma gondii Comprises Three Clonal Lineages: Correlation of Parasite Genotype with Human Disease. *J Infect Dis*. 1995. 172 (6): 1561–1566.
4. Johnson AM, Roberts H, Tenter AM. Evaluation of a recombinant antigen ELISA for the diagnosis of acute toxoplasmosis and comparison with traditional antigen ELISAs. *J Med Microbiol.* 1992. 37 (6): 404–409.
5. Naot Y, Remington JS. An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of IgM Antibodies to Toxoplasma gondii: Use for Diagnosis of Acute Acquired Toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 1980. 142 (5): 757–766.
6. Saadatnia G, Golkar M. A review on human toxoplasmosis. *Scand J Infect Dis.* 2012. 44 (11): 805–814.
7. Sensini A. Toxoplasma gondii infection in pregnancy: opp ortunities and pitfalls of serological diagnosis. *Clin Microbiol Infect.* 2006. 12 (6): 504–512.
8. Teshager D, Getachew T, Mebratu A, Tesfaye S. Toxoplasmosis: Epidemiology with the emphasis of its public health importance. *Merit Res J Med Med Sci.* 2014. 2 (4): 97–108.

20 Symbolerklärung

2°C 8°C	Lagerungstemperatur
	Trocken lagern
	Mindesthaltbarkeitsdatum
LOT	Chargennummer
	Hersteller
	Gebrauchsanleitung beachten
REF	Katalognummer
Σ	Testanzahl
IVD	In-Vitro-Diagnostikum

Testschema EIA Toxoplasma IgG

Schritt	Symbol	Einzelne Testschritte
1		Verdünnung der Proben von Serum/Plasma 1:101 (10 µl + 1 ml) Fötale- und Neugeborenen-Seren/-Plasmen 1:101 (10 µl + 1 ml)
2		Pipettieren der Kontrollen und der verdünnten Proben 100 µl Blank = leere Vertiefung
3		Inkubation 60 Min. bei 37 °C
4		Absaugen und Waschen der Vertiefungen 5×
5		Pipettieren des Konjugats 100 µl Blank = leere Vertiefung
6		Inkubation 60 Min. bei 37 °C
7		Absaugen und Waschen der Vertiefungen 5×
8		Pipettieren des Substrats (TMB-Substrat) 100 µl Einschließlich Blank
9		Inkubation 20 Min. bei 37 °C
10		Pipettieren der Stopplösung 100 µl Einschließlich Blank
11		Photometrische Messung bei 450 nm